

**Einfluß der Aperturblenden auf Tiefenschärfe und  
andere Abbildungseigenschaften im Raster-Elektronenmikroskop**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

1971

vorgelegt von

Horst Bodenburg

aus Hildesheim



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548809\\_0085](https://archive.org/details/IA41548809_0085)

**Einfluß der Aperturblenden auf Tiefenschärfe und  
andere Abbildungseigenschaften im Raster-Elektronenmikroskop**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Horst Bodenburg

aus Hildesheim

Referent: Professor Dr. med. V. Becker

Korreferent: Professor Dr. med. H.-J. Merker

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der  
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23. November 1971

## Einfluß der Aperturblenden auf die Tiefenschärfe und andere Abbildungseigenschaften im Raster-Elektronenmikroskop

Influence of the Aperture on the Depth of Focus and other Alterations of the Pictures with the Scanning Electron Microscope

L'influence du diaphragme sur la profondeur de champ et sur d'autres altérations de l'image avec le microscope électronique à balayage

H. BODENBURG <sup>1)</sup>, <sup>2)</sup>, <sup>3)</sup>

Pathologisches Institut des Klinikums Westend der Freien Universität Berlin

Eingegangen 21. September 1971

### Zusammenfassung

1. Aufbau und Funktionsweise eines Raster-Elektronenmikroskopes werden kurz beschrieben.
2. Es werden die Veränderungen der Tiefenschärfe in Abhängigkeit vom Aperturblenden-Durchmesser anhand von eigenen Messungen graphisch dargestellt. Hierbei zeigt sich, daß die Tiefenschärfe mit Verkleinerung der Blende bei Konstanzhaltung aller anderen Parameter im Sinne einer Tangensfunktion wächst. Die gemessenen Werte werden durch Berechnung bestätigt.
3. In der Diskussion wird zunächst darauf hingewiesen, daß bei Veränderung des Arbeitsabstandes und der Linsenerregung, die beide ebenfalls Einfluß auf die Tiefenschärfe haben, Bildverdrrehungen auftreten und bei großer Tiefenschärfe Abbildungseigenschaften in den Vordergrund treten, die durch die Zentralprojektion bedingt sind und zu Fehldeutungen der Bilder führen können.

Außerdem wird gezeigt, daß man die Blende nicht beliebig klein wählen kann, um eine große Tiefenschärfe zu erhalten, da bei Verkleinerung der Blende das Auflösungsvermögen ein Optimum durchläuft. Auch der Bildkontrast wird bei kleinen Blenden geringer, so daß feine Oberflächenreliefs des Objektes nicht mehr erkannt werden können.

### Summary

1. A brief report is given on the construction and mode of operation of the scanning electron microscope.
2. The changes of the depth of focus in dependence on the diameter of the aperture obtained by own measurements are graphically represented. This shows that the depth of focus increases in values of a tangential function if the aperture size is reduced and if the other parameters are kept at constant values. The values measured have been confirmed by calculation.
3. In the discussion, it has been pointed to the fact that misrepresentations of the pictures may occur (torsions) with an alteration of the working distance and stimulation of the lens which

<sup>1)</sup> H. BODENBURG, Pathologisches Institut, Klinikum Westend, Spandauer Damm 130, D-1000 Berlin 19.

<sup>2)</sup> Mit dankenswerter Unterstützung durch die „Deutsche Forschungsgemeinschaft“.

<sup>3)</sup> Arbeit unter Anleitung von R. HERBST.

both have an influence upon the depth of focus, and that characteristics of the pictures come in the forefront which are due to the central projection and which may lead to misinterpretations of the pictures.

Furthermore, it has been shown that not any aperture size may be chosen with the goal to obtain a considerable depth of focus as the resolving power passes through an optimum with the diminution of the aperture. The contrast of the picture is also reduced with smaller apertures so that fine surface reliefs of the object can no longer be distinguished.

## Résumé

1. Une courte description est faite sur la construction et sur le fonctionnement du microscope électronique à balayage.
2. Les modifications de la profondeur de champ par rapport au diamètre du diaphragme sont représentées par un graphique. Celui-ci montre que la profondeur de champ varie dans le sens d'une tangente, en rapport avec la diminution du diamètre du diaphragme si l'on garde les autres paramètres constants. Les résultats obtenus sont confirmés par les calculs.
3. La discussion démontre que lorsqu'on change la distance de travail et la tension des lentilles, ces deux facteurs ont une influence sur la profondeur de champ, que des déformations, et lorsque la profondeur de champ est importante, certains caractères particuliers apparaissent sur les images. Ceci est dû à la projection centrale et peut amener à une fausse interprétation des résultats.

De plus il est démontré que l'on ne peut pas choisir délibérément le diamètre du diaphragme pour obtenir une plus grande profondeur de champ car, lors du rapetissement du diaphragme, on passe par une résolution optimum. Le contraste des photographies perd lui-même aussi de son intensité lors de la réduction du diamètre du diaphragme, de telle façon que certains fins détails du relief ne peuvent plus être distingués.

## 1. Einleitung und Fragestellung

Im Jahre 1935 veröffentlichte MAX KNOLL eine Arbeit, in der zum ersten Mal die Grundprinzipien eines Raster-Elektronenmikroskopes (REM) dargelegt wurden. Das erste Mikroskop dieser Art wurde dann drei Jahre später von MANFRED V. ARDENNE gebaut. Die unzureichende Qualität der Bilder, die er damit erhielt, kann man auf den damals noch relativ niedrigen Entwicklungsstand der Elektrotechnik und der Elektronik zurückführen. Das zweite Gerät wurde 1942 von ZWORYKIN, HILLIER und SNYDER gebaut. Sie benutzten zur Bündelung des Elektronenstrahls zwei elektrostatische Linsen. Aber auch hier war die Bildqualität nicht wesentlich besser.

1948 begannen OATLEY und Mitarbeiter in Cambridge mit der systematischen Entwicklung des REM. Als Ergebnis dieser Arbeit kam 1965 das erste serienmäßig gefertigte Gerät, das *Stereoscan*, auf den Markt. Es fand sofort große Beachtung in allen Zweigen der Naturwissenschaft; nicht zuletzt darauf ist es zurückzuführen, daß inzwischen mehrere technisch verbesserte Typen zur Verfügung stehen.

Die Darstellung räumlicher Zusammenhänge mit dem Raster-Elektronenmikroskop wurde von den Biologen aufgegriffen. In einer großen Zahl von Publikationen sind neue Erkenntnisse mit Hilfe dieser Methode dargelegt. Die Untersuchung biologischer Weichgewebe erforderte präparatorische Pionierarbeit, um im Vakuum naturgetreue Abbildungen zu erzielen.

Ein wesentlicher Vorzug des REM gegenüber herkömmlichen Mikroskopen ist die große Tiefenschärfe bei der direkten Abbildung von Objektoberflächen. Der Grund hierfür liegt in dem kleinen Aperturwinkel des primären Elektronenstrahles, der

hauptsächlich durch den kleinen Durchmesser der Aperturblende bedingt ist. Dieser Blendendurchmesser ist ein wesentlicher Parameter im Abbildungs geschehen des REM und wir haben versucht, seinen Einfluß systematisch zu erfassen.

## 2. Material und Methode

### 2.1. Gerät und Funktion

Aufbau und Arbeitsweise sollen an dieser Stelle kurz erläutert werden. Wir benutzen für unsere Versuche Raster-Elektronenmikroskope der Typen Cameca <sup>4)</sup> und Stereoscan <sup>5)</sup>.

Allgemein formuliert, besteht das Raster-Elektronenmikroskop aus drei größeren Systemen:

- a) der elektronenoptischen Säule,
- b) dem Elektronenfänger-System und
- c) dem Wiedergabe- und Steuer-System.

Von der Kathode durch Thermoemission freigesetzte Elektronen werden in einem von 0–50 kV variablen elektrischen Feld beschleunigt und gleichzeitig durch einen Wehnelt-Zylinder vorgebündelt in der Weise, daß eine virtuelle Kathode entsteht. Der Durchmesser dieser virtuellen Kathode, der Öffnungswinkel des Primärstrahles an dieser Stelle und damit so wichtige Größen wie der endgültige Primärstrahldurchmesser und die „Helligkeit“ der Kathode, die definiert ist als Stromdichte pro Raumwinkeleinheit, werden neben der Temperatur der Kathode wesentlich durch die geometrische Anordnung der Kathode und des Zylinders bestimmt [23]. Die so vorgebündelten und beschleunigten Elektronen werden nach dem Passieren eines Loches in der Anode durch ein System von elektronenoptischen Linsen geleitet. Die Aufgabe dieser magnetischen Linsen, deren Anzahl je nach Bauart zwischen 2 und 3 variiert, besteht in der Reduktion des Durchmessers des Strahles auf ein Minimum, so daß er bei seinem Auftreffen auf dem Objekt etwa eine Größe von 50–100 Å hat [14, 15, 17]. Unterstützend bei diesem Vorgang wirken Blenden, speziell die Aperturblenden, die sich direkt über dem Objekt befinden.

Ein weiteres, wesentliches System, das sich in der Säule befindet, ist das Strahlenablenk-System. Es ist meistens oberhalb oder innerhalb der dem Objekt nächstgelegenen Linse angebracht. Seine Aufgabe ist es, den Primärstrahl in einem rasterähnlichen Muster über einen Ausschnitt des Objektes zu lenken. Hierdurch wird also der gewünschte Objektausschnitt Punkt für Punkt abgetastet.

Der Primärstrahl reagiert nun mit dem Objekt in mehrfacher Weise. U. a. wird ein Teil der Primärelektronen nach Art eines elastischen Stoßes vom Objekt reflektiert. Weiterhin können sie einen Strom im Objekt verursachen, oder die vom Objekt aufgenommene Energie wird in Form elektromagnetischer Strahlung verschiedener Wellenlängen wieder abgegeben. Außerdem werden im Objekt Sekundärelektronen ausgelöst, die z. T. aus der Oberfläche austreten. Sie verlassen das Objekt mit einer relativ geringen Energie ( $E_s \sim 50$  eV) [5, 9, 21] im Gegensatz zu den reflektierten Elektronen, deren Energiebetrag zwischen 50 eV und dem der Primärelektronen schwanken kann [10]. Wegen der geringen Energie der Sekundärelektronen ist es möglich, sie mit einem schwachen elektrischen Feld ( $\sim 200$  V), das seitlich zur Oberfläche des Objektes wirkt, abzusaugen. Der so gewonnene Sekundärelektronenstrom wird nach Umwandlung und Verstärkung durch ein Al-Szintillator- und Photomultiplier-System zur Steuerung der Helligkeit einer Braunschen Röhre benutzt, die als Betrachtungsschirm dient. Da die Ablenkung des Strahles in der Braunschen Röhre und die des Primärstrahles auf dem Objekt synchron laufen, korrespondieren Objekt-

<sup>4)</sup> Wir danken der Firma Cameca, Paris, dafür, daß sie uns ihr REM zur Anfertigung unserer Bilder zur Verfügung gestellt hat.

<sup>5)</sup> Ebenso danken wir Herrn Prof. SCHWARZ, Bundesanstalt für Materialprüfung, Berlin, und Herrn Prof. HELMCKE, Technische Universität Berlin, sowie der Firma Cambridge Instrument Company GmbH, Dortmund, für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Stereoscan-Bilder.

und Bildpunkt miteinander, und die Helligkeit des Bildpunktes wird durch die aus dem zugehörigen Objektpunkt ausgelöste Anzahl von Sekundärelektronen bestimmt.

Wesentlich für die Kontrastbildung und damit für die eigentliche Bildentstehung ist also die unterschiedliche Anzahl von Sekundärelektronen, die an zwei verschiedenen vom Primärstrahl getroffenen Stellen des Objektes entstehen und das Detektor-System, das seitlich vom Objekt angebracht ist, auch erreichen. Diese Zahl, die im allgemeinen als Sekundärelektronen-Ausbeute bezeichnet wird (das ist das Verhältnis der Zahl der Sekundärelektronen zur Zahl der Primärelektronen [22]), ist im wesentlichen durch drei Faktoren bestimmt:

a) Durch die *Größe des Winkels*, den der Primärstrahl mit der Oberflächen-Normalen des Objektes bildet (Einfallswinkel oder Kippwinkel [3, 19]). Dieser Winkel ist

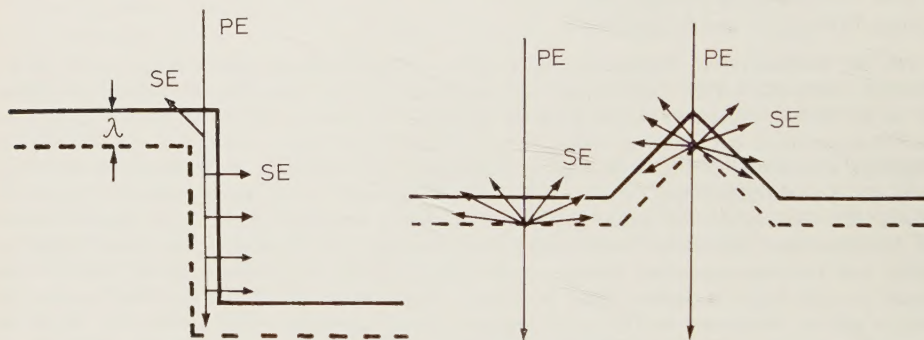


Abb. 1: Schematische Darstellung des Kanteneffektes: PE = Primärelektronenstrahl, SE = Sekundärelektronenstrahl,  $\lambda$  = Austrittstiefe der Sekundärelektronen. Links: Verhältnisse an einer Kante, rechts: Verhältnisse an einer Spitze.

durch eine im Objekthalter eingebaute Kippvorrichtung zwischen  $0^\circ$  und  $90^\circ$  bzw.  $45^\circ$  (je nach Herstellerfirma) variabel. Außerdem kann das Objekt noch in seiner Ebene und bei mehreren Geräten auch senkrecht dazu bewegt werden. Für die Sekundärelektronen-Ausbeute ergibt sich hier etwa folgende Größe:

$$\delta = \frac{\delta_0}{\cos \alpha} \quad (1)$$

( $\delta_0$  = Ausbeute bei senkrechtem Einfall, wenn  $\alpha = 0$ ;  $\alpha$  = Kippwinkel).

Dieser Faktor bestimmt also die Helligkeit ebener Objektflächenelemente. Bei einer rauen Oberfläche ändert sich natürlich der relative Einfallswinkel mit dem jeweilig bestrahlten Flächenelement laufend. Hier treten jedoch die beiden schon oben ange-deuteten weiteren Faktoren auf, nämlich der *Kanteneffekt* [22] und der *Abschattungseffekt* [3, 18, 19], die wesentlich zur Kontrastbildung beitragen und den Einfallswinkeleffekt überlagern.

b) Durch den *Kanteneffekt*, der in Abb. 1 für zwei verschiedene Oberflächenstruk-turelemente schematisch dargestellt ist, wird die Anzahl der Sekundärelektronen, die die Oberfläche verlassen, an Kanten und Spitzen größer, so daß solche Strukturele-mente im Bild heller erscheinen.

c) Durch den *Abschattungseffekt* wird die Anzahl der Sekundärelektronen, die das Detektor-System erreichen, mehr oder weniger variiert, je nachdem ob das entsprechende Flächenelement der Objektoberfläche dem Detektor zugewandt oder von ihm abgewandt bzw. abgeschattet ist. Dieser Effekt macht sich besonders stark bemerkbar in engen Löchern und Spalten. Im übrigen trägt er wesentlich dazu bei, daß das Bild auf dem Betrachtungsschirm von oben beleuchtet erscheint — die Schattenpartien sind die vom Detektor abgewandten Seiten — und erhöht dadurch den plastischen Eindruck, den man vom Bild erhält (siehe Abb. 2 a und 2 b).



Abb. 2 a



Abb. 2 b

Abb. 2: Menschliche Plazentazotten, 2 a: Die Scharfstellung erfolgte auf die Mikrovilli in unmittelbarer Nähe des Erythrozyten, Aperturblende 400  $\mu\text{m}$ , Abbildungsmaßstab 1470 : 1. 2 b: Deutlich ist die Zunahme der Tiefenschärfe an den verschiedenen Höhen des Präparates zu erkennen, Aperturblende 50  $\mu\text{m}$  und Abbildung im selben Maßstab 1470 : 1.

Die Vergrößerung ergibt sich aus dem Verhältnis der festgelegten Zeilenlänge des Betrachtungsschirmes, die im allgemeinen 10 cm beträgt, zur zugehörigen Zeilenlänge auf dem Objekt (Objektraster), die durch einen Stufenschalter gewählt werden kann:

$$V = \frac{L}{l} \quad (2)$$

( $V$  = Vergrößerung /  $L$  = Zeilenlänge auf dem Betrachtungsschirm /  $l$  = Zeilenlänge auf dem Objekt).

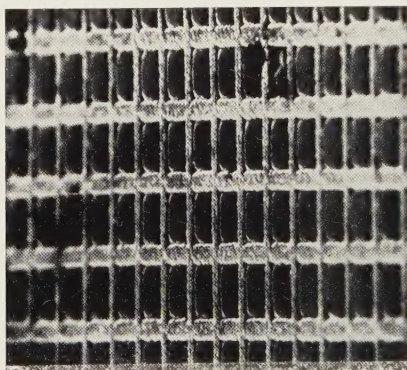
Der Vergrößerungsbereich liegt etwa zwischen 20 : 1 und 50 000 : 1.

Dieses sind, stark vereinfacht, Aufbau und Funktionsweise eines Raster-Elektronenmikroskopes. Es ist wichtig, diese Faktoren zu kennen, um die erhaltenen Bilder richtig deuten zu können.

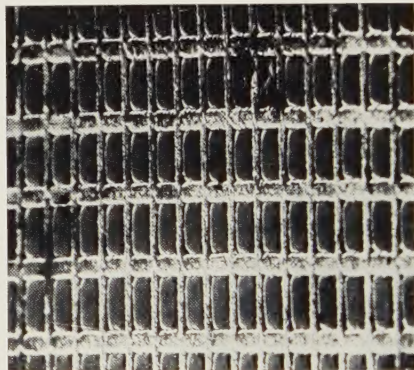
## 2.2. Untersuchungsmethode

Wir benutzten für unsere Tiefenschärfenmessungen ein in seinen Maßen bekanntes in Aluminium eingepreßtes, ebenes Kupfergitter und biologisches Weichgewebe. Das

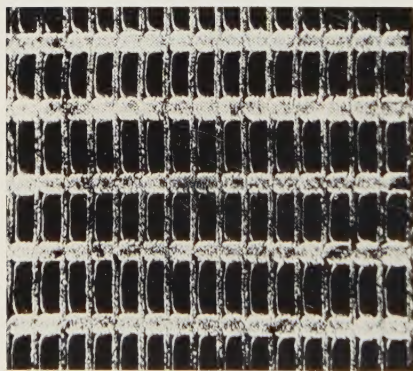
Gitter wurde unter dem Kippwinkel von  $75^\circ$  bei Konstanthaltung möglichst sämtlicher die Abbildung beeinflussender Parameter mit verschiedenen Blenden bei unterschiedlichen Vergrößerungen beobachtet, wobei die Kippachse parallel zur Zeilenrichtung verlief. Je nach Wahl der Blende und der Vergrößerung tritt hierbei eine unterschiedlich breite scharf abgebildete Zone (Zone der Tiefenschärfe) in der Mitte des Bildes



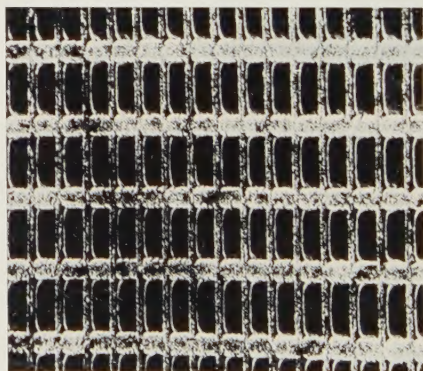
3 a



3 b



3 c



3 d

Abb. 3: Kupfergitter, 3 a: Aperturblende 400  $\mu\text{m}$ , Kippwinkel  $75^\circ$ , Abbildungsmaßstab ca. 400:1. 3 b: Aperturblende 200  $\mu\text{m}$ , 3 c: Aperturblende 100  $\mu\text{m}$ , 3 d: Aperturblende 50  $\mu\text{m}$ .

auf (siehe Abb. 3 a – 3 d). Die Tiefenschärfe wurde definiert als die Strecke in Axialrichtung des Primärstrahles, in der das Bild bei gegebener Vergrößerung auf wenigstens 0,2 mm aufgelöst werden kann.

Für relative Messungen genügt es, einfach die Zahl der scharf abgebildeten Gitterstäbe auszuzählen und in Beziehung zur Blende zu setzen. Der Abstand zwischen den Mitten zweier Gitterstäbe beträgt jeweils 25  $\mu\text{m}$ . Um absolute Werte zu erhalten, muß die scharf abgebildete Strecke mit dem Sinus des Kippwinkels multipliziert werden, da ja die Tiefenschärfe in Axialrichtung des Strahles gemessen wird.

## 2.3. Präparation des biologischen Weichgewebes

Für unsere Untersuchungen wurde menschliche Plazenta ausgewählt, da der räumliche Aufbau dieses Organs große Höhenunterschiede aufweist. Der hohe Wassergehalt der Chorionzotten stellt besondere Anforderungen an die Präparationstechnik [6, 7, 12, 13].

Wir gingen nach folgender Methode vor: Aus lebensfrischen menschlichen Plazenten wurden Gewebsblöcke von 1 cm Kantenlänge herausgeschnitten und mit 5%igem Glutaraldehyd in 1/15 M Phosphatpufferlösung von pH 7,2 fixiert. Die Proben wurden in 1/15 M Phosphatpufferlösung gewaschen, über eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert und luftgetrocknet. Die entwässerten Präparate wurden auf Probentellern mit Leitsilber befestigt und mit Kohle und Gold kegelbedampft. Die Untersuchungen des Plazenta-Gewebes wurden am REM Stereoscan der Firma Cambridge Instrument Company durchgeführt.

## 3. Ergebnisse

Die Abbildungen 2 a und 2 b zeigen, daß die Tiefenschärfe mit Verkleinerung der Blende wesentlich zunimmt und dadurch die Beurteilung der räumlichen Struktur der Plazenta besonders einfach ist.

### 3.1. Quantitative Auswertungen am Kupfergitter

In der letzten Spalte der Tabellen 1 und 2 steht je der theoretisch zu erwartende Wert der Schärfentiefe, den wir durch folgende einfache mathematische Beziehung abgeschätzt haben:

$$T = \frac{200 \mu\text{m}}{V \cdot \tan \alpha} \quad (3)$$

Tab. 1: Messungen am REM der Firma Cameca, Paris, bei folgender Einstellung:

kV = 30 / Scanning Speed = 80 / Kippwinkel = 75° / Abstand Blende—Objekt = 20 mm

| Vergrößerung | Blende<br>$\mu\text{m}$ | gemessener Wert<br>der Tiefenschärfe<br>$\mu\text{m}$ | berechneter Wert<br>der Tiefenschärfe<br>$\mu\text{m}$ |
|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 120 : 1      | 400                     | 216                                                   | 233,5                                                  |
|              | 200                     | 456                                                   | 467                                                    |
|              | 100                     | 912                                                   | 934                                                    |
|              | 50                      | 1657                                                  | 1868                                                   |
| 280 : 1      | 400                     | 108                                                   | 100                                                    |
|              | 200                     | 216                                                   | 200                                                    |
|              | 100                     | 408                                                   | 400                                                    |
|              | 50                      | 792                                                   | 800                                                    |
| 700 : 1      | 400                     | 43,3                                                  | 40                                                     |
|              | 200                     | 72,1                                                  | 80                                                     |
|              | 100                     | 192                                                   | 160                                                    |
|              | 50                      | 288                                                   | 320                                                    |

Tab. 2: Messungen am REM „Stereoscan“ der Firma Cambridge Instrument Company, Dortmund, bei folgender Einstellung:

kV = 20 / Kippwinkel =  $75^\circ$  / Abstand Blende—Objekt = 16 mm

| Vergrößerung | Blende<br>$\mu\text{m}$ | gemessener Wert<br>der Tiefenschärfe<br>$\mu\text{m}$ | berechneter Wert<br>der Tiefenschärfe<br>$\mu\text{m}$ |
|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 100 : 1      | 200                     | 300                                                   | 320                                                    |
|              | 100                     | 600                                                   | 640                                                    |
|              | 50                      | 1100                                                  | 1280                                                   |
|              | 25                      | *)                                                    | 2560                                                   |
|              | 10                      | *)                                                    | 6420                                                   |
|              | 5                       | *)                                                    | 12840                                                  |
| 200 : 1      | 200                     | 140                                                   | 160                                                    |
|              | 100                     | 300                                                   | 320                                                    |
|              | 50                      | 670                                                   | 640                                                    |
|              | 25                      | *)                                                    | 1280                                                   |
|              | 10                      | *)                                                    | 3210                                                   |
|              | 5                       | *)                                                    | 6420                                                   |
| 500 : 1      | 200                     | 70                                                    | 64                                                     |
|              | 100                     | 140                                                   | 128                                                    |
|              | 50                      | 240                                                   | 256                                                    |
|              | 25                      | 490                                                   | 512                                                    |
|              | 10                      | *)                                                    | 1284                                                   |
|              | 5                       | *)                                                    | 2568                                                   |
| 1000 : 1     | 200                     | 30                                                    | 32                                                     |
|              | 100                     | 70                                                    | 64                                                     |
|              | 50                      | 140                                                   | 128                                                    |
|              | 25                      | 260                                                   | 256                                                    |
|              | 10                      | *)                                                    | 642                                                    |
|              | 5                       | *)                                                    | 1284                                                   |

\*) Bei kleineren Blenden konnten die Werte zum Teil nicht mehr gemessen werden, da die Zone der Tiefenschärfe hier größer war als der mit der Abbildung erfaßte Objektbereich.

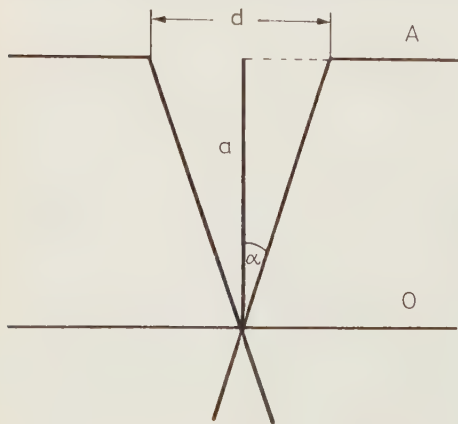


Abb. 4: Geometrische Beziehung zwischen Blendendurchmesser, Arbeitsabstand und halbem Öffnungswinkel zur Illustrierung der Gleichung (3). A = Ebene der Aperturblende, O = Objektebene, a = Abstand Blende—Objekt (Teil des Arbeitsabstandes), d = Blendendurchmesser,  $\alpha$  = halber Öffnungswinkel.

( $V$  = Vergrößerung (Abbildungsmaßstab  $V : 1$ );  $\alpha$  = halber Aperturwinkel). Diese Gleichung sei in Abb. 4 durch die trigonometrischen Beziehungen verdeutlicht.

Definitionsgemäß soll die Tiefenschärfe den Bereich umfassen, der auf dem endgültigen Bild bis zu einer Auflösung von  $200\text{ }\mu\text{m}$  scharf wiedergegeben wird. Auf dem Objekt entspricht das der Strecke  $200\text{ }\mu\text{m}/V$ . Die Tiefenschärfe entspricht dann dem

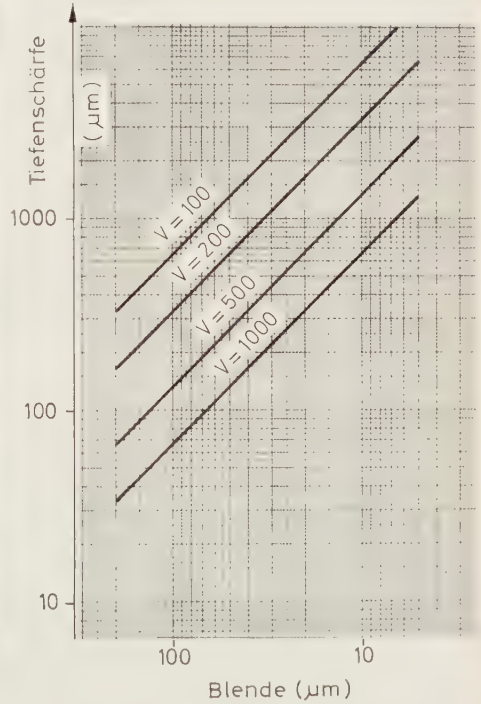
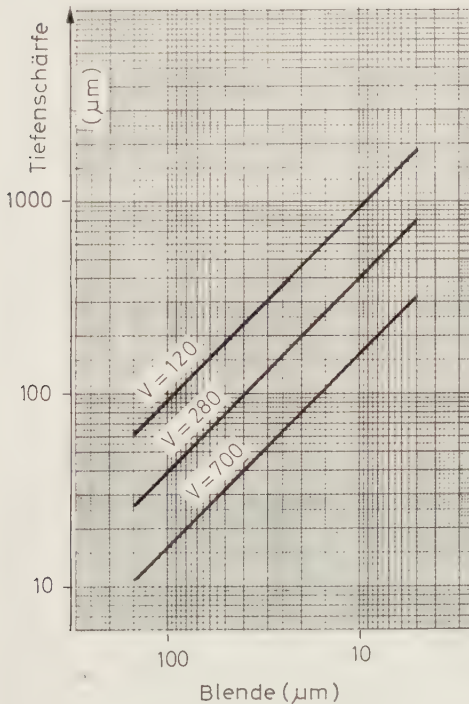


Abb. 5: Graphische Darstellung der Tiefenschärfe (in  $\mu\text{m}$ ) in Abhängigkeit von Aperturblende und Vergrößerungsfaktor für das REM der Firma Cemea, Paris.

Abb. 6: Graphische Darstellung der Tiefenschärfe (in  $\mu\text{m}$ ) in Abhängigkeit von Aperturblende und Vergrößerungsfaktor für das „Stereoscan“ der Firma Cambridge Instrument Company.

Bereich, in dem der Primärstrahldurchmesser  $\leq 200\text{ }\mu\text{m}$  ist. Dieser Bereich ist, wie aus der Abb. 4 leicht ersichtlich, gleich

$$T = \frac{200\text{ }\mu\text{m}}{V \cdot \tan \alpha} \quad (3)$$

Die graphische Darstellung ergibt dann die in den Abb. 5 und 6 wiedergegebenen Kurven.

#### 4. Diskussion

Aus den Kurven der Abb. 5 und 6 geht hervor, daß bei Verkleinerung des Blendendurchmessers unter  $50\text{ }\mu\text{m}$  die Tiefenschärfe sehr schnell zunimmt. Da sie aber nicht

nur vom Blendendurchmesser, sondern auch von der Vergrößerung, dem Arbeitsabstand und der Erregung der magnetischen Linsen abhängt [20], mußten wir diese Parameter bei unserer Untersuchung konstant halten. Die größte Tiefenschärfe erhält man, wenn man nicht nur die Blende sehr klein macht, sondern gleichzeitig einen großen Arbeitsabstand bei geringer Linsenerregung und kleiner Vergrößerung wählt. Hierbei treten jedoch Eigenschaften des REM in Erscheinung, die die Abbildung in anderer Weise stark beeinflussen. Durch die Tatsache, daß wir ein in seinen Maßen bekanntes Gitter benutzten, konnten wir zwei dieser Eigenschaften der Abbildung, die Bild Drehung und die Bildverzerrung [1] unberücksichtigt lassen. Bei unbekannten Objekten müssen diese beiden Eigenschaften aber unbedingt beachtet werden, da ihre Vernachlässigung — speziell bei Verwendung kleiner Blenden — zu erheblichen Fehlern in der Auswertung führen kann. Zur Bild Drehung und -verzerrung sei noch folgendes bemerkt: Der primäre Elektronenstrahl tastet das Objekt in der Art eines Systems paralleler Zeilen ab. Dazu wird der Primärstrahl mit konstanter Winkelgeschwindigkeit abgelenkt. Die Abbildung hat also den Charakter einer Zentralprojektion, wobei die Projektionslänge  $D$  (siehe Abb. 7) (Strecke vom Objektmittelpunkt zum Projektionszentrum  $P$ ) durch den Arbeitsabstand plus einer konstanten Strecke festgelegt ist. Der Arbeitsabstand ist willkürlich definiert als die Entfernung des Objektes von der Grundplatte der letzten Linse. Seine Größe ist abhängig von der Brennweite und damit von der Erregung dieser Linse. Da die Ablenkspulen für den Primärstrahl oberhalb oder innerhalb dieses letzten Kondensors liegen, kann man das Objektraster als Bild eines zwischen dem letzten und vorletzten Kondensor gerasterten cross-over ansehen. Durch die magnetische Drehung ist aber das Objektraster gegenüber dem gerasterten cross-over um einen bestimmten Winkel verdreht, der von der Erregung der Linse und damit bei scharf eingestelltem Bild vom Arbeitsabstand abhängig ist, den wir bei unserer Untersuchung konstant hielten.

Die durch die Zentralprojektion zustande kommende Bildverzerrung soll anhand der Abb. 7 erläutert werden:  $C$  sei ein Stufenobjekt mit dem Kippwinkel  $\alpha = 0^\circ$ ;  $A - B$  stelle ein ebenes Objekt dar, das um den Winkel  $\alpha \neq 0^\circ$  gekippt ist;  $s$  sei die konstante Winkelgeschwindigkeit;  $\Delta t$  der beobachtete Zeitraum. Man erkennt an Abb. 7, daß die beiden verschieden hoch gelegenen Objektteile gleich groß abgebildet werden, obwohl sie in Wirklichkeit verschieden groß sind. Der gleiche Effekt tritt auch bei nicht gekippten Objekten auf, wenn die Objektfläche erhebliche Höhenunterschiede aufweist. Die Größe der Verzerrung läßt sich aber für jeden Bildpunkt berechnen [1].

Bei Verwendung kleinerer Blenden ergibt sich durch die größere Tiefenschärfe, die man dadurch erhält, eher die Möglichkeit einer Fehlbeurteilung der Bilder, denn ein Objekt mit großen Höhenunterschieden in der Oberfläche wird jetzt überall scharf abgebildet, so daß sich die Verzerrung durch die Zentralprojektion besonders stark bemerkbar macht (siehe Abb. 8).

Die Zunahme der Tiefenschärfe bei Verwendung kleiner Blenden folgt aus der Verkleinerung des Aperturwinkels, dessen Größe durch die Blende effektiv definiert wird. Dieser Aperturwinkel ist eine zentrale Größe im Abbildungsgeschehen des REM. Durch ihn werden aber auch andere Faktoren, wie z.B. Auflösungsvermögen und Signal-Rausch-Verhältnis wesentlich beeinflusst. Um ein gutes Auflösungsvermögen zu erhalten, muß der Durchmesser, den der Primärstrahl auf dem Objekt hat, mög-



licht klein gemacht werden. Eine untere Grenze ist hierbei durch die Abbildungsfehler in den magnetischen Linsen gegeben.

Folgende Aberrationen werden an solchen Linsen beobachtet [23]:

- a) *Astigmatismus* (nicht wichtig, da er im Gerät ausgeglichen werden kann);
- b) *chromatische Aberration* (sie ist u. a. von der Streuung der Geschwindigkeiten bei thermoemittierten Elektronen abhängig);
- c) *sphärische Aberration* (bedingt durch die Form des Magnetfeldes der Linsen);
- d) *Beugung*.

Diese Aberrationen bewirken nun, daß man nicht einen Brennpunkt erhält, sondern nur eine Scheibe mit geringster Streuung, deren Durchmesser für jede Aberration einzeln durch die folgenden Gleichungen (4), (6) und (7) abgeschätzt werden kann:

Die chromatische Aberration entsteht dadurch, daß im Primärstrahl eine Streuung der Energie der Elektronen  $e\Delta V$  über der Hauptenergie  $eV_0$  besteht. Der Durchmesser der Brennscheibe ( $d_c$ ), die dadurch entsteht, kann ausgedrückt werden [4] als

$$d_c = C_c \frac{\Delta V}{V_0} \alpha, \quad (4)$$

wobei  $\alpha$  der halbe Aperturwinkel ist und  $C_c$  die chromatische Aberrationskonstante.  $C_c$  ist bestimmt durch die Natur des Linsenfeldes. Wenn man annimmt, daß die Ursache der chromatischen Aberration in erster Linie in den unterschiedlichen Emissionsgeschwindigkeiten der Elektronen liegt, kann man schreiben:

$$\frac{\Delta V}{V_0} \sim \frac{2kT}{eV_0}, \quad (5)$$

wobei  $k$  die Boltzmann-Konstante und  $T$  die Kathodentemperatur ist.

Der nächste Abbildungsfehler, die sphärische Aberration, läßt sich auch bei monochromatischem Strahl und exakt symmetrischen Linsen nicht vermeiden, da er aus der Notwendigkeit des Gebrauchs begrenzter numerischer Aperturen entsteht. Auf Elektronen, deren Flugbahn gegenüber der Linsenachse geneigt ist, wirken größere Feldstärken und sie werden deshalb stärker abgelenkt (= gebrochen). Der Durchmesser  $d_s$  der hierdurch entstehenden Brennscheibe läßt sich abschätzen [4] als

$$d_s \sim C_s \alpha^3, \quad (6)$$

wobei die sphärische Aberrationskonstante  $C_s$  von der Stärke und Verteilung des Linsenfeldes und von der Strahlspannung abhängig ist;  $\alpha$  ist wieder der halbe Öffnungswinkel.

Die letzte und fundamentalste Grenze ist gegeben durch die Beugung. Der Durchmesser  $d_b$  des Beugungsscheibchens läßt sich [23] als

$$d_b \sim 1,22 \frac{\lambda}{\alpha} \quad (7)$$

abschätzen, wobei  $\lambda$  die Wellenlänge ist.

Man sieht also aus den Gleichungen (4), (6) und (7), daß alle diese Aberrationen von  $\alpha$  und damit von der Blende abhängig sind. Im allgemeinen können sie alle gemeinsam auftreten, und es ist notwendig, die quantitativen Schätzungen der Einzelfehler zusammenzurechnen. Mit Hilfe der Fehlerrechnung ergibt sich [2]

$$d_{\text{eff}}^0 = \sqrt{d_c^2 + d_s^2 + d_b^2}. \quad (8)$$

$d_{\text{eff}}^0$  ist der theoretisch erreichbare kleinste Durchmesser, wenn nur die elektronenoptischen Eigenschaften des Systems berücksichtigt werden. Es hat sich aber nun gezeigt, daß zur Erkennung eines minimalen Kontrastunterschiedes auf dem Bild ein minimaler Schwellenstrom  $I_s$ , der vom Strahl transportiert werden muß, nicht unterschritten werden darf [15, 16]. Wird der Strahlstrom zu klein, überwiegen die Rauscheffekte auf dem Bild, wie an den Abbildungen 10 a – 10 c zu ersehen ist. Um diesen Schwellenstrom  $I_s$  transportieren zu können, muß der Strahl einen minimalen Durchmesser  $d_0 = f(I_s)$  haben. Der Zusammenhang zwischen Strahldurchmesser  $d$  und Strahlstrom  $I$  ergibt sich aus der Beziehung (9):

$$I_s = J_{\text{DA}} K \frac{\tau}{4} d_0^2 \quad (9)$$

[23], wobei  $I_s$  wieder Schwellenstrom,  $d_0$  der zugehörige minimale Durchmesser und  $J_{\text{DA}}$  die Strahlstromdichte ist.  $K$  ist eine Konstante, deren Größe davon abhängt, wie weit man den Abfall der Stromdichte von der Strahlachse zur Peripherie, der einer Gauß-Verteilung entspricht, in die Gleichung einbezieht. Durch Benutzung einer Blende kann  $K = 1$  gemacht werden. Nach LANGMUIR [11] ist die Stromdichte  $J_{\text{DA}}$  am Bild einer Elektronenquelle gleich

$$J_{\text{DA}} \leq J_c \left( 1 + \frac{eV}{kT} \right) \sin^2 \alpha \cong J_c \frac{eV}{kT} \alpha^2; \quad (10)$$

es bedeuten  $J_c$  die Stromdichte an der Kathode,  $V$  das Potential zwischen Kathode und Bild der Kathode,  $T$  die Temperatur der Kathode und  $\alpha$  der halbe Öffnungswinkel.

Faßt man die Gleichungen (9) und (10) zusammen und löst nach  $d_0$  auf, so folgt

$$d_0 = \frac{I_s^{\frac{1}{2}}}{\left( \frac{\pi}{4} \cdot \frac{eV}{kT} J_c \right)^{\frac{1}{2}}} \cdot \frac{1}{\alpha} = \frac{C_0}{\alpha}. \quad (11)$$

$C_0$  ist eine Konstante, zu der man den ersten Quotienten von (11) zusammenfassen kann. Die Größe von  $I_s$  ist gegeben durch den jeweils geforderten minimalen Kontrastunterschied (siehe unten). Aus Gleichung (11) geht hervor, daß bei Erreichen des Schwellenstroms mit weiterer Verkleinerung von  $\alpha$  bzw. der Blende der Durchmesser  $d_0$  wieder zunimmt.

Faßt man alle den Strahldurchmesser beeinflussenden Größen zusammen, so ergibt sich für

$$d_{\text{eff}}^2 = [C_0^2 + (1,22 \lambda)^2] \frac{1}{\alpha^2} + C_s^2 \alpha^6 + \left( \frac{C_c \Delta V}{V} \right)^2 \alpha^2. \quad (12)$$

Aus dieser Gleichung ergibt sich, daß unabhängig davon, wie groß  $C_0$ ,  $C_s$ ,  $C_c$  und  $V$  sind,  $d$  mit Veränderung von  $\alpha$  ein Optimum durchläuft, an dem  $d$  am kleinsten ist, was in Abb. 9 graphisch dargestellt ist.

Den kleinsten Strahldurchmesser und damit die beste Auflösung erhält man also, wenn die Aberrationskonstanten und der Strahlstrom möglichst klein gehalten werden. Für  $\alpha$  und damit für die Blende ergibt sich für einen jeweils vorhandenen Schwellenstrom ein Optimum. Überschreitet man dieses Optimum in Richtung nach kleineren

Blenden, nimmt die Auflösung wieder ab. Man kann also die Blende nicht beliebig klein machen, um eine möglichst große Tiefenschärfe zu erhalten.

Mit Verkleinerung des Strahlstroms, also auch mit Verkleinerung der Blende, nimmt aber ebenso der Kontrast des Bildes ab. Nach OATLEY [15] läßt sich diese Tatsache folgendermaßen erklären: Die Anzahl  $n$  der Primärelektronen, die auf jedes Element  $N$  der Objektoberfläche auftrifft, ist

$$n = \frac{I_p t}{e N_f}, \tag{13}$$

wobei  $I_p$  die Strahlstromstärke,  $t$  die Rasterzeit (Zeit, in der der Strahl die Objekt-oberfläche abrastert),  $e$  die Elementarladung und  $N_f$  die Anzahl der einzelnen Bild-

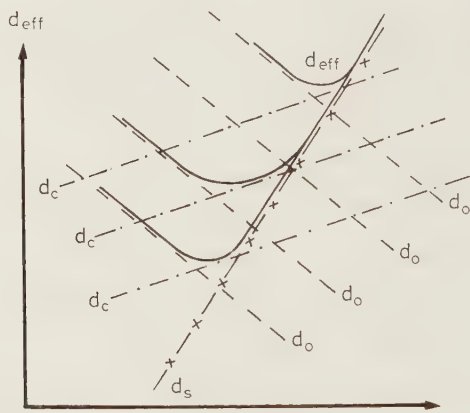


Abb. 9: Graphische Darstellung der Abhängigkeit des theoretisch erreichbaren kleinsten Durchmessers  $d_{eff}$  vom halben Öffnungswinkel  $\alpha$ . Abgeänderte Darstellung nach THORNTON [23].  
(Erläuterung im Text.)

elemente bedeuten. Ist  $M$  die Anzahl der Zeilen auf dem Bildschirm (= Zeilenzahl auf dem Objekt), so folgt  $N_f = M^2$ . Um eine hohe Bildqualität zu bekommen, wählt man  $M = 1000$ .

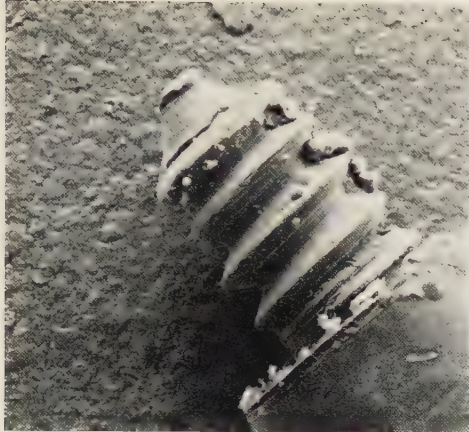
Da aber die Elektronenemission von der Kathode ein Zufallsprozeß ist, variiert  $n$  nach der statistischen Relation

$$\frac{n}{\sqrt{n}} = \sqrt{n} \tag{14}$$

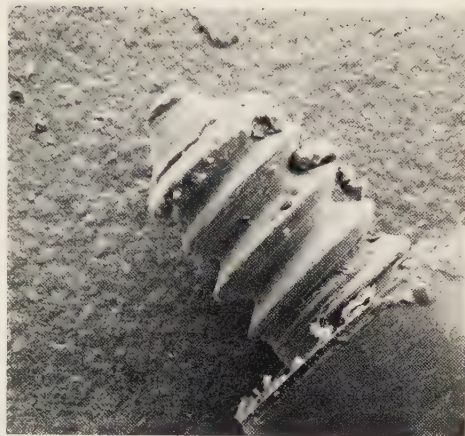
und man setzt dieses Verhältnis gleich dem Signal-Rausch-Verhältnis. Man sieht hieraus, daß bei abnehmender Anzahl der Informationsträger (Elektronen) das Signal-Rausch-Verhältnis kleiner wird und damit der Informationsgehalt des Bildes abnimmt.

Die Erfahrung hat nun gezeigt, daß auf dem endgültigen Bild eine Zone mit der Helligkeit  $B$  von einer mit der Helligkeit  $B \pm \Delta B$  nur dann unterscheidbar ist, wenn [15]

$$\sqrt{n} \geq \frac{5 B}{\Delta B} \tag{15}$$



10 a



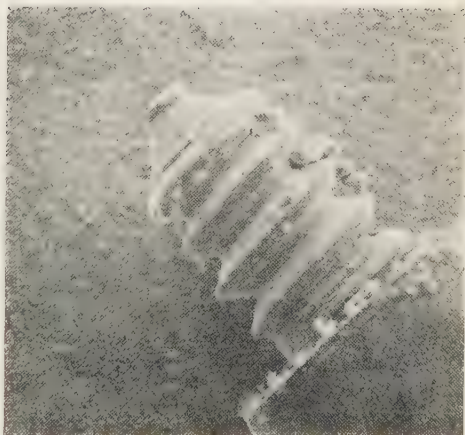
10 b

Abb. 10: Verschlechterung der Bildqualität bei Überwiegen der Rauscheffekte durch zu kleine Aperturblende. Kippwinkel  $0^\circ$ , Abbildungsmaßstab ca. 70 : 1.

10 a: Aperturblende 100  $\mu\text{m}$ ,

10 b: Aperturblende 50  $\mu\text{m}$ ,

10 c: Aperturblende 10  $\mu\text{m}$ .



10 c

gilt. Daraus ergibt sich, wenn man in entsprechend Gleichung (13) einsetzt,

$$25 \left( \frac{B}{\Delta B} \right)^2 \leq \frac{I_p t}{e N_f}. \quad (16)$$

Daraus geht hervor, daß bei Verkleinerung von  $I_p$ , d.h. bei Verkleinerung der Blende, der Kontrast  $\frac{B}{\Delta B}$  abnimmt und das  $I_p$  einen Grenzwert nicht unterschreiten darf, da sonst geringe Höhendifferenzen auf dem Objekt nicht mehr unterschieden werden können. Dies bedeutet, daß eine raue Objektoberfläche auf dem endgültigen Bild fast homogen erscheint, wie es in den Abbildungen 10 a – 10 c dargestellt ist.

## Literaturverzeichnis

- [1] CHRISTENHUSS, R., und G. PFEFFERKORN: Bilddrehung und Verzerrung beim Raster-Elektronenmikroskop Stereoscan. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **1**, 129 (1968).
- [2] COSLETT, V. E.: Practical Electron Microscopy. Butterworth & Co. Ltd., London 1951.
- [3] EVERHART, T. E.: Factors Affecting Contrast and Resolution in the Scanning Electron Microscope. J. Electronics a. Control **7**, 97 (1959).
- [4] GLASER, W.: Strenge Berechnung magnetischer Linsen der Feldform  $H = \frac{H_0}{1 + (z/a)^2}$ . Z. Phys. **117**, 285 (1940/41).
- [5] HACHENBERG, O., und W. BRAUER: Secondary Electron Emission from Solids. Adv. Electronics Electron Phys. **11**, 413 (1959).
- [6] HERBST, R., A.-M. MULTIER und Y. INATSUGI: Die räumliche Darstellung der menschlichen Chorionzotten mit dem JEOL-Raster-Elektronenmikroskop. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **1**, 297 (1968).
- [7] HERBST, R., und A.-M. MULTIER: Der Einfluß von Duron auf biologische Weichgewebe. Gem. Tagg. Österr. Arbeitsgem. Ultrastrukturforschung u. Dtsch. Ges. Elektronenmikroskopie, Wien 1969.
- [8] KNOLL, M.: Aufladepotential und Sekundäremission elektronenbestrahlter Körper. Z. Techn. Phys. **16**, 467 (1935).
- [9] KOLLATH, R.: Sekundärelektronen-Emission fester Körper bei Bestrahlung mit Elektronen. In: S. FLÜGGE (Hrsg.): Handbuch der Physik, Band 21: Elektronen-Emission Gasentladungen I, p. 232. Springer-Verlag. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1956.
- [10] KUHLENKAMPF, H., und W. SPYRA: Energieverteilung rückdiffundierter Elektronen. Z. Phys. **137**, 416 (1954).
- [11] LANGMUIR, D. B.: Theoretical Limitations of Cathode-Ray Tubes. Proc. I.R.E. **25**, 2, 977 (1937).
- [12] MULTIER-LAJOUS, A.-M.: Methodik zur Darstellung biologischer Weichgewebe mit Raster-Sekundärelektronen-Emissionsmikroskop. Anat. Anzeig. Ergänzungsh. **126**, 433 (1970).
- [13] MULTIER, A.-M., und R. HERBST: Präparationsmethoden biologischer Weichgewebe für die Raster-Elektronenmikroskopie. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **3**, 281 (1970).
- [14] NIXON, W. C.: Scanning Electron Microscopy. Contemporary Physics **10**, 71 (1969).
- [15] OATLEY, C. W.: The Scanning Electron Microscope. Science Progress **54**, 483 (1966).
- [16] OATLEY, C. W., W. C. NIXON und R. F. W. PEASE: Scanning Electron Microscopy. Adv. Electronics Electron Phys. **21**, 181 (1965).
- [17] PFEFFERKORN, G., und R. BLASCHKE: Der Informationsgehalt rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **1**, 1 (1968).
- [18] REUMUTH, H.: Stereoscan, ein neues Zeitalter der Mikroskopie? Mikrokosmos **57**, 1 (1968).
- [19] SCHUR, K., R. BLASCHKE, L. REIMER und CHR. SCHULTE: Vergleich der Oberflächenabbildung im Rastermikroskop Stereoscan mit der Oberflächenabbildung durch Platin-Kohle-Abdruckschichten im Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **1**, 141 (1968).
- [20] SCHUR, K., R. BLASCHKE, W. UELHOFF und H. FEHMER: Zum Einfluß des Betrachtungswinkels auf die Wiedergabe der Oberflächenmorphologie bei Stereoscan-Aufnahmen. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **1**, 79 (1968).
- [21] SEILER, H.: Einige aktuelle Probleme der Sekundärelektronenemission. Z. Angew. Phys. **22**, 249 (1966/67).
- [22] SEILER, H.: Die physikalischen Aspekte der Sekundärelektronenemission für die Elektronen-Raster-Mikroskopie. Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. **1**, 27 (1968).
- [23] THORNTON, P. R.: Scanning Electron Microscopy. Chapman and Hall. London 1968.

## Lebenslauf

Name: Bodenburg

Vorname: Horst

geboren: 3.9.1940 in Hildesheim

Familienstand: verheiratet

Ehefrau: Bodenburg, Karin, geborene Dreßler (Ärztin)

Eltern: Bodenburg, Josef (Konzertmeister),  
Hildesheim, Einumerstraße 17  
und  
Ehefrau Olga, geb. Liekefett

Schulbildung: eingeschult zu Ostern 1947;  
ab 1951 Besuch eines Gymnasiums;  
nach Abschluß der 12. Klasse die Oberschule verlassen;  
April 1962 Fremdenreifeprüfung an einem neusprachlichen  
Gymnasium in Hildesheim.

Studienablauf: WS 1962/63 Beginn eines Studiums der Elektrotechnik an  
der TU Berlin;  
November 1964 Studienwechsel und Beginn des Medizin-  
Studiums an der FU Berlin.  
Physikum im April 1967 an der FU Berlin.  
Ärztliches Staatsexamen am 20.8.1970 an der FU Berlin.

Jetzige Tätigkeit: Vom 1.10.70 bis 31.12.1970 als Medizinalassistent im  
Oskar-Helene-Heim, Berlin.  
Vom 1.1.71 bis 31.5.71 in der Chirurgischen Abteilung  
des Elisabeth Krankenhauses, Berlin-Schöneberg, tätig.  
Seit dem 1.6.71 an der Inneren Abteilung des Klinikum  
Steglitz als Medizinalassistent beschäftigt.





